

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-146874

(43)Date of publication of application : 21.05.2003

(51)Int.Cl.

A61K 31/202
A61K 9/48
A61K 31/232
A61P 9/10

(21)Application number : 2002-310878

(71)Applicant : QUATEX NV

(22)Date of filing : 25.10.2002

(72)Inventor : SHIBUYA HAJIME

(30)Priority

Priority number : 2001 MI20012384 Priority date : 12.11.2001 Priority country : IT

(54) USE OF POLYUNSATURATED FATTY ACID FOR PRIMARY PREVENTION OF MAJOR CARDIOVASCULAR EVENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To primarily prevent major cardiovascular events in subjects who have not undergone infarct episodes.

SOLUTION: A polyunsaturated fatty acid of the ω -3 series such as eicosapentaenoic acid (EPA, C205 ω -3), docosahexaenoic acid (DHA C226 ω -3) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof is used for the primary prevention of the major cardiovascular events in the subjects who have not undergone the infarct episodes.

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	データベース (参考)
A 6 1 K 31/202		A 6 1 K 31/202	4 C 0 7 6
9/48		9/48	4 C 2 0 6
31/232		31/232	
A 6 1 P 9/10		A 6 1 P 9/10	

審査請求 未請求 請求項の数27 O L 外国語出願 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2002-310878(P2002-310878)	(71) 出願人	500035432 クアテックス ナームロゼ ヴェノーツハ ツプ オランダ領アンティル、 キュラソー、 ジ エイ ベー ゴルシラヴエク 14
(22) 出願日	平成14年10月25日 (2002.10.25)	(72) 発明者	滋谷 肇 東京都柏江市岩戸北 2-4-9
(31) 優先権主張番号	M I 2 0 0 1 A 0 0 2 3 8 4	(74) 代理人	100062007 弁理士 川口 義雄 (外4名)
(32) 優先日	平成13年11月12日 (2001.11.12)		
(33) 優先権主張国	イタリア (I T)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 大心血管イベントの一次予防のための多価不飽和脂肪酸の使用

(57) 【要約】

【課題】 梗塞エピソードを受けたことのない被験者の大心血管イベントを一次予防すること。

【解決手段】 エイコサペンタエン酸 (E P A、C 2 0 : 5 ω - 3)、ドコサヘキサエン酸 (D H A、C 2 2 : 6 ω - 3) またはそれらの薬剤として許容し得る誘導体等の ω - 3 系列の多価不飽和脂肪酸の、梗塞エピソードを受けたことのない被験者における大心血管イベントの一次予防のための使用。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 以前に梗塞エピソードを受けたことのない被験者において大心血管イベントの一次予防に有用な薬物を調製するための、 ω -3 系列の多価不飽和脂肪酸の使用であって、前記脂肪酸は、エイコサペンタエン酸 (EPA) および/またはドコサヘキサエン酸 (DHA) および/または薬剤として許容し得る少なくとも 1 種のそれらの誘導体を全脂脂肪酸重量に対して 25 重量%以上の量で含む、前記使用。

【請求項 2】 大心血管イベントが梗塞である請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】 大心血管イベントが心筋梗塞である請求項 1 に記載の使用。

【請求項 4】 大心血管イベントが、心臓病が原因の死である請求項 1 に記載の使用。

【請求項 5】 大心血管イベントが突然死である請求項 1 に記載の使用。

【請求項 6】 被験者が心臓病に罹患している請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 7】 被験者が運動脈虚血に罹患している請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 8】 被験者が不整脈、細胞、心筋細胞の電気的過興奮、心筋の電気的興奮および電気伝導の拡散障害に罹患している請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 9】 被験者が力学的タイプの心臓障害に罹患している請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 10】 被験者が心不全に罹患している請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 11】 被験者が心臓代償不全に罹患している請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 12】 被験者が心臓病と併発した糖尿病に罹患している請求項 6 から 11 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 13】 EPA および/または DHA および/または少なくとも 1 種のそれらの誘導体の含量が、全脂脂肪酸重量に対して 55 重量%と 100 重量%の間にある請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 14】 EPA および/または DHA および/または少なくとも 1 種のそれらの誘導体の含量が、全脂脂肪酸重量に対して 75 重量%と 95 重量%の間にある請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 15】 EPA および/または DHA および/または少なくとも 1 種のそれらの誘導体の含量が、全脂脂肪酸重量に対して約 85 重量%である請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 16】 EPA および/または DHA の少なくとも 1 種の誘導体が、対応する C_{18} あるいは C_{20} アルキルエステルおよび/または酸および/または薬剤として許容し得る塩基との塩から選択される請求項 1 から 15 のい

れか一項に記載の使用。

【請求項 17】 薬物が EPA エチルエステルおよび/または DHA エチルエステルを含む請求項 1 から 16 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 18】 薬物を経口投与する請求項 1 から 17 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 19】 薬物がゼラチン軟カプセルの形態をしている請求項 1 から 18 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 20】 薬物を 1 日当たり 0.1~3.0 g の用量で投与する請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 21】 薬物を 1 日当たり 0.3~2.0 g の用量で投与する請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 22】 薬物を 1 日当たり 1.0 g の用量で投与する請求項 1 から 21 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 23】 以前に梗塞エピソードを受けたことのない被験者において、請求項 1 から 22 のいずれか一項に記載の有効量の薬物投与を含む、大心血管イベントの一次予防方法。

【請求項 24】 大心血管イベントが梗塞である請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】 大心血管イベントが心筋梗塞である請求項 23 に記載の方法。

【請求項 26】 大心血管イベントが、心臓病が原因の死である請求項 23 に記載の方法。

【請求項 27】 大心血管イベントが突然死である請求項 23 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、大心血管イベントの一次予防のための多価不飽和脂肪酸の使用に関する。

【0002】とりわけ、本発明は、大心血管イベントの一次予防のために、エイコサペンタエン酸 (EPA、 $C_{20:5}$ ω -3)、ドコサヘキサエン酸 (DHA、 $C_{22:6}$ ω -3) またはそれらの薬剤として許容し得る誘導体等の ω -3 系列の多価不飽和脂肪酸の、単独または混合による使用に関する。

【0003】

【従来の技術】 ω -3 系列の多価不飽和脂肪酸の心血管疾患に対する多数の危険因子に及ぼす有益な効果は、良く知られている。例えば、イクリア特許第 1235879 号、米国特許第 5502077 号、米国特許第 5656667 号および米国特許第 5698594 号は、高トリグリセリド血症、コレステロール量障害および高血圧にそれぞれ言及している。しかし、これらの引用文献は、それぞれ危険因子の処置を論じているが、実際に宣告された疾患を論じているのではない。

【0004】米国特許第 5753703 号は、心血管疾患、血管障害、糖尿病性末梢神経障害、およびアテロ-

心動脈硬化症、血栓塞症および組織障害の予防と治療に、 ω -3 系列の多価不飽和脂肪酸またはそのエステル、特に EPA および DHA を併用する L-カルニチンまたはその誘導体の使用を記載している。

【0005】EP-B-0409903号は、高脂血症および関連病変、血栓症、心筋梗塞、血小板凝集の治療に、アデローム性動脈硬化症の予防用抗凝固薬として、服薬後、血管運動機能によって起こる障害および閉塞、糖尿病およびその合併症、慢性および急性炎症、自己免疫症状の治療に、非ステロイド抗炎症剤で起こる胃腸性副作用の予防に、および軽微の予防に有用な EPA および DHA および/またはそれらのエステルの高濃度混合物を調製する方法を記載している。

【0006】CN1082909号は、例えば痙攣および心筋梗塞を治療する抗血栓溶剤として、ダイズリン脂質、マツヨイグサ (oenothera odorata) およびギンゲテンと組み合わせた ω -3 系列の EPA および DHA および他の多価不飽和脂肪酸のエチルエステルに基づく組成物を記載している。

【0007】米国特許第 5760081号は、EPA を含んだ組成物の静脈内注入による差し迫った心室の心筋細胞を予防する方法であって、差し迫った細胞の危険があるその被験者が既にしばしば心筋梗塞のエピソードの主役となっており、恐らく心臓内注射の使用して梗塞エピソードから 3 時間以内に注入が行なわれる。前記方法を記載している。心室細胞の特定の治療には、一刻を争う緊急事態や非経口の介入事態が常に存在する。

【0008】Swann et al., Clin ical Drug Investigation 15 (6), 473, 1998 も、1日当たり 4g の用量の EPA および DHA エチルエステルの投与は、異常な血漿リポ蛋白血症を示し心筋梗塞を発生したことのある被験者において、トリグリセリドおよびアポリ蛋白 C-III 総量を減少させ、抗ロビン C-III を増加させることを示し、したがってこれらの組成物の投与はリポ蛋白量の改善およびそれによる関連危険因子の減少を起こし得ると提案した。

【0009】国際公開第 00/48592号は、死亡、特に既に心筋梗塞に罹患している患者の「突然死」を予防するために、25重量%より多量に EPA および DHA エチルエステルの混合物を使用することを記載している。したがって、これはいわゆる二次性死亡の予防、即ち既に梗塞に罹患している被験者における前記混合物の使用を示している。

【0010】

【特許文献 1】イタリア特許第 1235879号

【特許文献 2】米国特許第 5502077号

【特許文献 3】米国特許第 5656667号

【特許文献 4】米国特許第 5698594号

【特許文献 5】米国特許第 5753703号

【特許文献 6】EP-B-0409903号

【特許文献 7】CN1082909

【特許文献 8】米国特許第 5760081号

【非特許文献 1】Swann et al., Clin ical Drug Investigation 15 (6), 473, 1998

【非特許文献 2】欧州薬局方 2000 (Euph. 2000)

【特許文献 9】国際公開第 00/48592号

【特許文献 10】米国特許第 5130061号

【特許文献 11】国際公開第 89/11521号

【特許文献 12】特開平 02-25447

【0011】

【発明が解決しようとする課題】したがって、最新技術に記載されている脂肪酸混合物による心血管損傷の予防は、心血管損傷の「二次的」予防に絞っている。即ち既に梗塞に罹患している被験者を保護することを目的としているが、大血管イベントの「一次的」予防、即ち心臓循環系および/または心臓呼吸系の様々な症状に襲われているが、未だ梗塞エピソードを発生していない被験者の予防は、この部門で今なお認められている技術的問題である。

【0012】

【課題を解決するための手段】第 1 の態様によれば、本発明は、以前に梗塞エピソードを発生していない被験者において大血管イベントを一次予防するのに有用な薬物を調製するための ω -3 系列の多価不飽和脂肪酸の使用であって、前記脂肪酸はエイコサペンタエン酸 (EPA) および/またはドコサヘキサエン酸 (DHA) および/または薬剤として許容し得る少なくとも 1 種のそれらの誘導体を全脂酸重量に対して 25 重量%以上の量で含む、前記使用に関する。

【0013】本記述において、「 ω -3 系列の多価不飽和脂肪酸」という表現は、魚油を含む一般に $C_{16} \sim C_{24}$ の長鎖多価不飽和脂肪酸、特に精製工場で主要に $C_{20} \sim C_{22}$ の鎖を有するそのような脂肪酸を意味する。

【0014】「大血管イベント」という表現は、心筋および脳への冠動脈分枝の梗塞、心臓病変、突然死等、梗塞以外に広く言って中等、および心筋細胞、心房および/または心室細胞等のこのような大イベントの前駆症状等の、可逆的または不可逆的な血管障害が関与するイベントを特に意味している。前記の大血管イベントは、以前の梗塞エピソードでは発生しなかった冠動脈虚血症等の様々な心臓循環器系および心臓機能系疾患によって、ならびに恐らくは（悪化した肉体的ストレス、薬物誤用、急性高血圧発作等の）酸素要求量の増加を予想する条件の存在下で（例えば麻酔、外科手術等の間の）突然の酸素欠乏で起こる重大な低酸素/無酸素状態や電気的および/または力学的タイプの心臓欠陥による類似

の急性および慢性疾患によって普通引き起こされる。

【0015】心臓循環系および心臓呼吸系疾患に冒され、したがって高トリグリセリド血症、高血圧等による危険が単に予想されているだけではない被験者とは、例えば、運動器造影、心筋のシンチグラフィ、ストレス下の心電図（ECG）等で検出することができ、血管再生（血管形成）や他の考え得る薬理学的または機能的治療の介入が提案されてきた冠動脈虚血に冒されることによって、様々なレベルで心臓病と定義することのできる被験者、および糖尿病等の併発症で悪化する恐れのある、心筋細胞の電気的過興奮、電気的興奮や電気伝導の放散障害（不整脈、細動等）または力学的タイプの他の欠陥（心不全、代償不全）に冒されている被験者を表している。

【0016】本発明による ω -3系列の多価不飽和脂肪酸の使用は、梗塞、特に心筋梗塞、心臓病死または突然死等の大イベントの発生が予想され、このような発症が、例えば冠動脈虚血、不整脈、心房および/または心室細動、心筋細胞の電気的過興奮、心筋の電気的興奮や電気伝導の放散障害、または力学的タイプの心臓障害、例えば心不全や心臓代償不全で冒され、その心臓病と併発する糖尿病にも冒されている恐れがある心臓病被験者において起こる場合に、特に指示される。

【0017】発明の実施形態【好ましくは、EPAおよび/またはDHAおよび/または少なくとも1種のそれらの誘導体の含量は、全脂肪酸重量に対する重量で、5.0%と100.0%の間、特に7.5%と95.0%の間、より好ましくは約85%である。

【0018】好ましいEPAおよび/またはDHA誘導体は、対応するC₁₈-C₂₂アルキルエステルおよび/または水酸化ナトリウム、リジン、アルギニンまたはコリンのようなアミノアルコール類等の薬剤として許容し得る塩基とのそれらの塩から選択される。特に、任意の濃度とパーセンテージで共に混合したEPAおよびDHAのエチルエステルは最も好ましい。

【0019】その薬物は、好ましくは経口で、特にゼラチン軟カプセルの形態で投与される。経口使用では、一般に単位用量は ω -3系列の多価不飽和脂肪酸を100~1000mg、好ましくは500~1000mgまたは300~500mg含む、全用量は対象とする症例に応じて、普通1日当たりまたは隔日当たり約0.1~3.0g、好ましくは1日当たり0.3~2.0g、とりわけ1日当たり1.0gである。本発明の使用に適する薬物の有効用量は、1.0~60.0mg/kg体重/日である。

【0020】経口投与のための他のタイプの処方、例えば、多価不飽和脂肪酸を固体支持体上に吸着した錠剤、カプセルや錠剤も本発明の目的に適する。乳濁液、分散剤中の粒状体、シロップ、液滴等、および疾患の重症に基づ

いて当分野の熟練技術者が評価したとき、非経口用途等に適する減菌溶液や乳濁液等の全身薬物投与を保証し得る他の剤形を使用することも可能である。

【0021】欧州薬方局2000（EuPh, 2000）に示され、EPAおよびDHAエチルエステルの混合物を80重量%以上の量および ω -3多価不飽和脂肪酸エチルエステルを合計で90重量%以上を含む組成物も、本発明の目的に適している。

【0022】本発明の使用に適する前記組成物および薬物は、製剤法に関して本発明の記述中に組み込まれている米国特許第5130061号、国際公開第89/11521号、イタリア特許第1235879号、特開平02/25447に記載されている方法等の当分野の熟練技術者に知られている方法によって調製することができる。

【0023】本発明による使用に適する薬物は、本発明による使用に適する薬物の活性を補充するか、それと共同作用を示す活性を有する他の活性な成分および/または薬物も組み合わせることであり、さらに少なくとも1種の薬剤として許容し得る賦形剤および/または少なくとも1種の希釈剤および/または少なくとも1種の界面活性剤および/または少なくとも1種の増粘剤および/または少なくとも1種の結合剤および/または少なくとも1種の潤滑剤および/または少なくとも1種の賦香剤および/または少なくとも1種の着色剤および/または少なくとも1種の安定剤等も含むことができるが、これらのものは当分野の熟練技術者によって容易に選択することができる。安定剤の中で、当分野の熟練技術者によって容易に選択することができるビタミンE（トコフェロール）、パルミチン酸アスコルビル、アスコルビン酸、ヒドロキシシトルエン等の抗酸化剤が特に好ましい。

【0024】他の態様によれば、本発明は、以前に梗塞エピソードを受けたことのない被験者において大心血管イベントを一次予防する方法であって、前記の ω -3系列の多価不飽和脂肪酸を含む薬物の有効用量を投与することを含む方法に関する。とりわけ、本発明の方法は、梗塞、特に心筋梗塞、心臓病死または突然死等の大心血管イベントの発生が予想されるときは必ず指示される。

【0025】以下の実施例は本発明を例示するが、本発明を制限するものではない。

【0026】実施例
次表に示した各組成物は、米国特許第5130061号（組成物A、C、D、F）、イタリア特許第1235879号（組成物B）、特開平02/25447（組成物E）および国際公開第89/11521号（組成物G〜I）に記載されている方法によって調製した。

【0027】次表に示したすべての量は、 ω -3系列の多価不飽和脂肪酸の全重量に対する重量パーセンテージを表す。

【0028】

【表1】

	A ¹	B ¹	C ¹	D ¹	E ¹	F ¹	G ¹	H ¹	I ¹
EPA	>40	>44	>40	>25	>80	>20	<15	>40	>40
DHA	>34	>30	>34	>20	<10	>25	>80	>30	>30
EPA+DHA	>85	>80	>80	>50	>80	>50	>85	>80	>80
エステル ⁴		>3	...						
総エステル ⁵			>90						
α-トコフェロール	0.08	0.08	0.1	0.3	0.1	0.8	0.03	0.1	0.1

¹ エテルエステル; ² 遊離酸; ³ ナトリウム塩; ⁴ 他の (C₂₀, C₂₁, C₂₂) ω-3 酸のエテルエステル; ⁵ ω-3 酸の総エステル

【0029】実施例2

多価不飽和脂肪酸エテルエステルを1g含んだゼラチン軟カプセルに関して次表に示した各組成物は、当分野で

知られている方法によって調製した。

【0030】

【表2】

	A (mg)	B (mg)	C (mg)
EPA ¹	525	—	>400
DHA ¹	315	—	>340
EPA+DHA ¹		850	>800
Etω-3 ²		—	>900
d-α-トコフェロール	4 IU	—	4 IU
d,l-α-トコフェロール		0.3	
ゼラチン	246	—	246
ゼラチンコハク酸エステル		253	
グリセロール	118	67	118
OFF	2.27	—	2.27
OFG	1.27		1.27
SOB		1.09	
SPOB		0.54	

¹ エテルエステル; OFF: 赤色酸化鉄; OFG: 黄色酸化鉄; SOB: p-オキシ安息香酸ナトリウム; SPOB: プロピル p-オキシ安息香酸ナトリウム; IU: 国際単位

【0031】薬理活性

本発明の組成物の薬理活性は、小型実験動物（マウス、モルモット、ラット）で行う試験に基づいて評価した。この実験モデルを測定した理由は、迅速で再現性の高い証拠を作り、かつ明らかな倫理的な関与とともに患者を危険に曝すことなく、結果の評価を統計的に正確にすることができるように、十分に多数の動物を使用することができるためである。

【0032】これらの試験の実施中、各群の動物を実施例1および2の処方で繰り返し予備処理し、次いで未処理群と比較するために、心臓毒性または呼吸抑制物質の作用を受けさせ、次いで死亡からの保護を肉眼で測定し、もしくは（心電図の記録によって）初期心臓不整脈または心室性頻脈の開始遅延および特に、突然の心臓および/または呼吸停止による動物死の遅延または予防を測定した。

【0033】類似の実験モデルを用いて、心臓毒性剤の代わりに冠動脈結紮による心臓病、冠動脈虚血および梗塞状態を引き起こした。

【0034】試験1

突然死実験モデルを心臓毒性剤（ウアバイン）の静脈内（i. v.）投与で引き起こされる心臓停止によって得た。予備試験において、様々な用量のウアバインを体重300〜380gの両性の非麻酔モルモットに投与することによって、静脈内注射から15分以内の100%のモルモットに対する最少致死量を決定した（240mg/kg、3分経をかけて静脈内に投与する）。

【0035】次いで、モルモット20匹の2群を、EPAおよびDHAエテルエステル（実施例1、組成物A）を85%含んだ組成物の50および100mg/kgで10日間処理した。その最後の投与から2時間後に、その2群のモルモットおよび対照として用いる別の未処理群を240mg/kg i. v. のウアバインで処理し、その後15分以内の致死数を記録した。

【0036】15分後の生存数で表した結果：

対照	0/20
50mg/kg	11/20
100mg/kg	16/20

【0037】試験2

初期体重が25～32gの雄マウス15匹の3群を、生理溶液（対照群）ならびにEPAおよびDHAエチルエステルを85%含んだ組成物（実施例1、組成物A）の50または100mg/kgで15日間、経口投与で処理した。

【0038】その最後の処理の終了から60分後に、すべての群のマウスをペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与（50mg/kg）で処理し、次いでアモニチ

ンの静脈内投与で処理した（0.25mg/kg）。心臓不整脈（正常な洞律動から>5秒の偏位）、心室細動および心臓停止の出現時間、心電図の記録によって決定した。

【0039】陽性のマウスに関して平均±標準偏差（秒）として表した結果：

【0040】

【表3】

T	t ₁ (秒)	t ₂ (秒)	t ₃ (秒)	S
C	123 ± 12 (15/15)	174 ± 7 (15/15)	214 ± 32 (15/15)	00/15
50 mg/kg	166 ± 8 (08/15)	235 ± 16 (08/15)	350 ± 26 (06/15)	09/15
100 mg/kg	195 ± 15 (05/15)	284 ± 18 (03/15)	378 ± 35 (03/15)	12/15

T—処理；T₁—不整脈の出現時間（動物数）；T₂—心動の出現時間（動物数）；T₃—心臓停止の時間（動物数）；S—15分後の生存数；対照（生理溶液による）

【0041】試験3

初期体重が310～350gの雄ラット20匹の2群を、生理溶液（対照群）ならびにEPAおよびDHAエチルエステルを>80%含んだ組成物（実施例1、組成物B）の100mg/kgで15日間、経口投与で処理した。次いで、2群のラットをペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与（50mg/kg）で麻酔し、左心室への血流を可能にする左前下行冠動脈の結紮を施すこ

とによって、心筋の急性虚血状態を引き起こした。その後の15分の間、心室細動の期間をECGによって記録したが、心室細動は自然消滅するか、突然死で終了した。

【0042】結果

【0043】

【表4】

T	F (秒)	致死数	S (%)
C	190 ± 24 (16/20)	16/20	20
100 mg/kg	55 ± 5 (04/20)	01/20	95

T—処理；F—心動の期間；S—15分後の生存数；C—対照（生理溶液による）

【0044】試験4

呼吸停止による突然死に用いた実験モデルでは、クロロホルム吸入による呼吸停止の誘発を起こす。

【0045】初期体重が26～32gの雄マウス10匹の4群を、生理溶液（対照群）ならびにEPAおよびDHAエチルエステルを80%含んだ組成物（実施例1、組成物C）の10、30および60mg/kgで5日間、経口投与で処理した。

【0046】その最後の処理の終了から60分後に、呼

吸停止が起こるまで、マウスをクロロホルムに曝露した。次いで、低酸素状態によって起こる心筋の頓倒性不整脈に対してマウスを検査したが、頓倒性不整脈は次の15分以内に自然消滅するか、マウスの死亡で終了した。

【0047】結果

【0048】

【表5】

処理	頓倒性不整脈からの保護	生存数
対照	00/10	03/10
10 mg/kg	04/10	06/10
30 mg/kg	07/10	08/10
60 mg/kg	09/10	10/10

【0049】試験5

雄ラット20匹の2群を、試験3と同様に、生理溶液ならびにEPAおよびDHAの同じ組成物（実施例1、組

成物B）で処理した。

【0050】次いで冠動脈側枝の結紮を施した結果、心筋の収縮容積および駆出分画が減少した。その後の6

0分の経過中に、対照群のラットの18/20という致死率は処理群の4/20に低下した。

【0051】臨床試験の結果は、以前に梗塞エピソード

を受けたことのない被験者の大心血管イベントの一次予防においてω-3系列の不飽和脂肪酸の薬理活性を示している。

フロントページの続き

Fターム(参考) 4C076 AA54 AA56 BB01 CC11 CC13
DD43 DD59 FF02
4C206 AA01 AA02 DA05 DB09 DB43
MA01 MA04 MA57 MA72 NA05
NA06 ZA40

1. Title of Invention

USE OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS FOR THE PRIMARY PREVENTION OF MAJOR CARDIOVASCULAR EVENTS

2. Claims

1. Use of polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series for the preparation of a drug useful in the primary prevention of a major cardiovascular event in subjects who have not undergone previous infarct episodes, wherein the fatty acids comprise eicosapentaenoic acid (EPA) and/or docosahexaenoic acid (DHA) and/or at least one pharmaceutically acceptable derivative thereof, in quantities greater than or equal to 25 wt% on the total fatty acid weight.
2. Use as claimed in claim 1, wherein the major cardiovascular event is infarct.
3. Use as claimed in claim 1, wherein the major cardiovascular event is infarct of the myocardium.
4. Use as claimed in claim 1, wherein the major cardiovascular event is death from a cardiological cause.
5. Use as claimed in claim 1, wherein the major cardiovascular event is sudden death.
6. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the subjects are cardiopathic.
7. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the subjects are affected by coronary ischemia.
8. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the subjects are affected by arrhythmia, fibrillation, electrical hyperexcitability of the myocardium cells, disorder of diffusion of the electrical excitement and of electrical conduction of the myocardium.
9. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the subjects are affected by cardiac disorders of mechanical type.
10. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the subjects are affected by cardiac insufficiency.
11. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the subjects are affected by cardiac decompensation.
12. Use as claimed in any one of claims from 6 to 11, wherein the subjects are affected by diabetic pathology concomitant with cardiopathy.
13. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the content of EPA and/or DHA and/or of the at least one derivative thereof is

between 50% and 100% by weight on the total fatty acid weight.

14. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the content of EPA and/or DHA and/or of the at least one derivative thereof is between 75% and 95% by weight on the total fatty acid weight.

15. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the content of EPA and/or DHA and/or of the at least one derivative thereof is equal to about 85% by weight on the total fatty acid weight.

16. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the at least one derivative of EPA and/or DHA is selected from the corresponding C₁-C₃ alkyl esters and/or acids and/or salts with pharmaceutically acceptable bases.

17. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the drug comprises EPA ethylester and/or DHA ethylester.

18. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the drug is administered orally.

19. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the drug is in the form of soft gelatin capsules.

20. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the drug is administered at a dose of 0.1-3.0 g per day.

21. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the drug is administered at a dose of 0.3-2.0 g per day.

22. Use as claimed in any one of the preceding claims, wherein the drug is administered at a dose of 1.0 g per day.

23. A method for the primary prevention of a major cardiovascular event in subjects who have not undergone previous infarct episodes, comprising the administration of an effective dose of a drug claimed in any one of the preceding claims.

24. A method as claimed in the preceding claim, wherein the major cardiovascular event is infarct.

25. A method as claimed in claim 23, wherein the major cardiovascular event is infarct of the myocardium.

26. A method as claimed in claim 23, wherein the major cardiovascular event is death from a cardiological cause.

27. A method as claimed in claim 23, wherein the major cardiovascular event is sudden death.

3. Detailed Description of Invention

The invention relates to the use of polyunsaturated fatty acids for the primary prevention of major cardiovascular events.

In particular, the invention concerns the use of polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series such as eicosapentaenoic acid (EPA, $C_{20:5}$ ω -3), docosahexaenoic acid (DHA, $C_{22:6}$ ω -3), or their pharmaceutically acceptable derivatives, either alone or mixed together, for the primary prevention of major cardiovascular events.

The beneficial effects of polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series on multiple risk factors for cardiovascular illnesses are well known; for example the patents IT 1235879, US 5502077, US 5656667 and US 5698594 refer respectively to hypertriglyceridemia, defects of the cholesterol level and hypertension. However, each of the cited documents deal with the treatment of risk factors, not with real and proclaimed illnesses.

US 5753703 describes the use of L-carnitine or its derivatives in association with polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series or their esters, in particular EPA and DHA, for the prevention and treatment of cardiovascular disorders, vascular pathologies, diabetic peripheral neuropathies, and atherosclerotic, thromboembolytic and tissue disorders.

EP-B-0409903 describes a process for preparing high concentration mixtures of EPA and DHA and/or their esters useful for treating hyperlipemia and related pathologies, thrombosis, cardiac infarct, platelet aggregation, as anticoagulants in the prevention of atherosclerosis, for the treatment of cerebral infarct, of lesions and occlusions caused by vasomotor spasms, of diabetes and its complications, of chronic and acute inflammations, of autoimmune symptoms, in the prevention of side effects caused by non-steroid anti-inflammatories at the gastrointestinal level and in tumour prevention.

CN 1082909 describes compositions based on ethyl esters of EPA and DHA and other polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series in association with soya phospholipids, *oenothera odorata* and ginkgetin, as antithrombotic and

antidementia agents for treating for example dementia and infarct of the myocardium.

US 5760081 describes a method for preventing imminent fibrillation of the myocardial ventricle by intravenous infusion of a composition containing EPA, where the subject at risk of imminent fibrillation has already often been the protagonist of an episode of infarct of the myocardium and where the infusion is effected within 3 hours of the infarct episode, possibly using intracardiac injection. These are always situations of extreme emergency and of parenteral intervention, for the specific treatment of ventricular fibrillation.

Swann et al., Clinical Drug Investigation 15 (6), 473, 1998 have also shown that the administration of EPA and DHA ethylesters, at a dose of 4 g per day, leads to a decrease in triglycerides and total apolipoprotein C III and to an increase in antithrombin III, in subjects with abnormal plasmatic lipoprotein symptoms and have undergone an infarct of the myocardium, they having consequently suggested that an administration of these compositions can result in an improvement in the lipoprotein level and hence a decrease in the relative risk factors.

WO 00/48592 describes the use of a mixture of EPA and DHA ethylesters in quantities greater than 25 wt.% for preventing death, in particular "sudden death" in patients who have already suffered an infarct of the myocardium. This therefore represents the use of said mixture in so-called secondary death prevention, i.e. in subjects who have already suffered infarct.

The prevention of cardiovascular damage by means of fatty acid mixtures described in the state of the art is therefore focused on "secondary" prevention of cardiovascular damage, i.e. aimed at protecting a subject who has already suffered an infarct, whereas "primary" prevention of major cardiovascular events, i.e. prevention in subjects who, while affected by various pathologies of the cardiocirculatory and/or cardiorespiratory systems, have not yet suffered an infarct episode, constitutes a technical problem which is still felt in this sector.

According to a first aspect the invention relates to the use of polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series for the preparation of a drug useful in the primary

prevention of a major cardiovascular event in subjects who have not undergone previous infarct episodes, wherein the fatty acids comprise eicosapentaenoic acid (EPA) and/or docosahexaenoic acid (DHA) and/or at least one pharmaceutically acceptable derivative thereof, in quantities greater than or equal to 25 wt% on the total fatty acid weight.

In the present description, the expression "polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series" means those long-chain polyunsaturated fatty acids, generally C₁₆-C₂₄, containing fish oils, in particular those having a C₂₀-C₂₂ chain, which are predominant in purification processes.

The expression "major cardiovascular event" means in particular those events which involve reversible or irreversible cardiovascular damage, such as infarct of the myocardium and of individual coronary branches, death from cardiac causes, sudden death, etc., besides to infarct, broadly speaking, ictus etc., and those conditions prodromal to such major events, such as myocardial fibrillation, atrial and/or ventricular fibrillation, etc. Said major cardiovascular events are usually induced by various cardiocirculatory and cardiorespiratory pathologies such as coronary ischemic illness not displayed by previous infarct episodes, and by serious hypoxic/anoxic states caused by a sudden lack of oxygen (for example during anesthesia, surgery, etc.), possibly in the presence of conditions which contemplate an increase in the oxygen requirement (accentuated physical stress, drug abuse, acute hypertensive crises, etc.) and analogous acute and chronic pathologies due to cardiac defects of electrical and/or mechanical type.

The subjects affected by pathologies of the cardiocirculatory and cardiorespiratory system, hence not simply at prospective risk due to hypertriglyceridemia, hypertension or other, are representative of subjects definable at various levels as cardiopaths, by being affected, for example, by coronary ischemia detectable by coronarography, scintigraphy of the myocardium, electrocardiogram (ECG) under stress, etc., against which interventions of revascularization (angioplasty) or other possible pharmacological or invasive treatments have been proposed, and of subjects affected by electrical hyperexcitability of the myocardium cells, disorder of the diffusion of electrical excitement or of electrical conduction (arrhythmia,

fibrillation, etc.) or by other defects of mechanical type (cardiac insufficiency, decompensation), possibly aggravated by concomitant pathologies such as diabetes.

The use of polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series according to the invention is particularly indicated if the occurrence of a major event is predicted, such as an infarct, in particular of the myocardium, death from a cardiological cause, or sudden death, and where such an occurrence takes place in cardiopathic subjects affected, for example, by coronary ischemia, arrhythmia, atrial and/or ventricular fibrillation, electrical hyperexcitability of the myocardium cells, disorder of the diffusion of electrical excitement or of electrical conduction of the myocardium, or cardiac disorders of mechanical type, for example cardiac insufficiency or cardiac decompensation, possibly affected by diabetic pathology concomitant with the cardiopathy.

Preferably, the content of EPA and/or DHA and/or of the at least one derivative thereof is between 50% and 100%, in particular between 75% and 95%, and more preferably about 85% by weight on the total fatty acid weight. The preferred EPA and/or DHA derivatives are selected from the corresponding C₁-C₃ alkyl esters and/or from their salts with pharmaceutically acceptable bases such as sodium hydroxide, lysine, arginine or aminalcohols such as choline. The ethylesters of EPA and DHA, in particular mixed together in any concentration and percentage, are the most preferred.

The drug is administered preferably orally, in particular in the form of soft gelatin capsules. For oral use, the unit dose generally comprises 100-1000 mg of polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series, preferably 500-1000 mg or 300-500 mg, the total dose being usually around 0.1-3.0 g per day or per alternate day, according to the case concerned, and preferably 0.3-2.0 g per day and in particular 1.0 g per day. The effective dose of the drug suitable for the use of the invention is 1.0-60.0 mg/kg of body weight/day.

Other types of formulation for oral administration are also suitable for the purposes of the invention; for example hard capsules or tablets, in which the polyunsaturated fatty acids are adsorbed on solid supports. It is also possible to use emulsions, granulates in dispersing excipients, syrups,

droplets, etc., and other forms of administration able to ensure systemic absorption of the drug, such as sterile solutions or emulsions and the like, suitable for parenteral use and the like, as evaluated by the expert of the art, on the basis of the severity of the pathology.

Those compositions illustrated in the European Pharmacopea 2000 (EuPh. 2000), containing quantities greater than or equal to 80 wt% of mixtures of EPA and DHA ethylesters and a total of ω -3 polyunsaturated fatty acid ethylesters greater than or equal to 90 wt% are also suitable for the purposes of the present invention.

The aforestated compositions and the drugs suitable for the use of the invention can be prepared by methods known to the expert of the art, such as those described in US 5130061, WO 89/11521, IT 1235879, JP 02/25447, which are incorporated into the present description with regard to the method of preparation.

The drug suitable for use according to the present invention can also comprise other active principles and/or drugs, in association, possessing activity complementary to or synergic with that of the drug suitable for use according to the invention, and also at least one pharmaceutically acceptable vehicle and/or one diluent and/or one surfactant and/or one thickener and/or one binder and/or one lubricant and/or one aromatizer and/or one colorant and/or one stabilizer and the like, which can easily be selected by the expert of the art. Of the stabilizers, antioxidants such as vitamin E (tocopherol), ascorbyl palmitate, ascorbic acid, hydroxytoluene and the like, which can be easily selected by the expert of the art, are particularly preferred.

According to another aspect, the invention relates to a method for the primary prevention of a major cardiovascular event in subjects who have not undergone previous infarct episodes, comprising the administration of an effective dose of a drug comprising polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series as hereinbefore described. In particular, the method of the invention is indicated whenever the occurrence of a major cardiac event is predicted such as an infarct, in particular of the myocardium, death from a cardiological cause or sudden death.

The following examples illustrate the invention but without limiting it.

The compositions illustrated in the following table were prepared by the methods described in US 5130061 (compositions A, C, D, F), IT 1235879 (composition B), JP 02/25447 (composition E) and WO 89/11521 (compositions G-I).

All the quantities indicated in the following table express percentages by weight on the total weight of polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series.

	A ¹	B ¹	C ¹	D ¹	E ¹	F ¹	G ¹	H ²	I ³
EPA	>40	>44	>40	>25	>80	>20	<15	>40	>40
DHA	>34	>30	>34	>20	<10	>25	>80	>30	>30
EPA+DHA	>85	>80	>80	>50	>80	>50	>85	>80	>80
esters ⁴		>3	-						
tot. esters ⁵			>90						
α -tocopherol	0.03	0.03	0.1	0.3	0.1	0.3	0.03	0.1	0.1

¹-ethyl esters; ²-free acids; ³-sodium salts; ⁴-ethyl esters of other (C₂₀, C₂₁, C₂₂) ω -3 acids; ⁵-total ethyl esters of ω -3 acids.

EXAMPLE 2

The compositions illustrated in the following table, relative to soft gelatin capsules containing 1 g of polyunsaturated fatty acid ethyl esters, were prepared by methods known in the art.

	A (mg)	B (mg)	C (mg)
EPA ¹	525	-	>400
DHA ¹	315	-	>340
EPA+DHA ¹		850	>800
Total ω -3 ¹		-	>900
d- α -tocopherol	4 I.U.	-	4 I.U.
d,l- α -tocopherol		0.3	
gelatin	246	-	246
gelatin succinate		233	

glycerol	118	67	118
OFR	2.27	-	2.27
OFG	1.27		1.27
SOB		1.09	
SPOB		0.54	

¹-ethyl esters; OFR: red iron oxide OFG: yellow iron oxide; SOB: sodium p-oxybenzoate; SPOB: sodium propyl p-oxybenzoate; I.U.: international units.

PHARMACOLOGICAL ACTIVITY

The pharmacological activity of the compositions of the invention was evaluated on the basis of tests carried out on small laboratory animals (mouse, guinea pig, rat); this experimental model was chosen because of the ability to make rapid and highly reproducible verifications and to use a sufficiently large number of animals, such as to enable a statistically accurate evaluation of the results to be made without exposing the patient to risk, with evident ethical implications.

During the course of these tests, groups of animals were pretreated repeatedly with the formulations of Examples 1 and 2 and then, in comparison with untreated groups, were subjected to the action of cardiotoxic or respiration-depressive substances, then visually measuring protection against death, or – by means of elettrocardiographic recording – measuring the delay in the start of initial cardiac arrhythmia or of ventricular tachycardia and above all the delay in or the prevention of animal death due to sudden cardiac and/or respiratory arrest.

Using an analogous experimental model, cardiological pathology, coronary ischemia and a state of infarct were induced by coronary ligation instead of by cardiotoxic agents.

Test 1

The experimental sudden death model was obtained by cardiac arrest induced by intravenous (i.v.) administration of a cardiotoxic agent (ouabain). In preliminary tests, various doses of ouabain were administered to non-anesthetized guinea pigs of both sexes of weight 300-380 g, in order to determine the minimum lethal dose for 100% of the animals within 15 minutes from i.v. injection (240 mg/kg, intravenously administered over 3

minutes).

Two groups of 20 guinea pigs were then treated with 50 and 100 mg/kg of a composition containing 85% of EPA and DHA ethylesters (Ex. 1, composition A) for 10 days. After 2 hours from the last administration the two groups of guinea pigs and a further untreated group, used as control, were treated with 240 mg/kg i.v. of ouabain, recording mortality within the subsequent 15 minutes.

Results expressed as survivors after 15 minutes:

Controls 00/20

50 mg/kg 11/20

100 mg/kg 16/20

Test 2

3 groups of 15 male mice, initial weight 25-32 g, were treated orally for 15 days with physiological solution (control group) and with 50 or 100 mg/kg of a composition containing 85% of EPA and DHA ethylesters (Ex. 1, composition A).

60 minutes after the end of the last treatment, the animals of all the groups were treated with sodium pentobarbital i.p. (50 mg/kg) and then with aconitine i.v. (0.25 mg/kg). The times of appearance of cardiac arrhythmia (deviation >5 seconds from the normal sinus rhythm), of ventricular fibrillation and of cardiac arrest were determined by electrocardiograph recording.

Results expressed as mean \pm standard deviation (seconds) on the positive animals.

T	t ₁ (sec)	t ₂ (sec)	t ₃ (sec)	S
C	123 \pm 12 (15/15)	174 \pm 7 (15/15)	214 \pm 32 (15/15)	00/15
50 mg/kg	168 \pm 8 (08/15)	235 \pm 16 (06/15)	350 \pm 26 (06/15)	09/15
100 mg/kg	195 \pm 15 (05/15)	284 \pm 18 (03/15)	378 \pm 35 (03/15)	12/15

T-treatment; t₁-time of appearance of arrhythmia (number of animals); t₂-time

of appearance of fibrillation (number of animals); t_3 -time of cardiac arrest (number of animals); S-survivors after 15 minutes; C-control (with physiological solution).

Test 3

2 groups of 20 male rats, initial weight 310-350 g, were treated orally for 15 days with physiological solution (control group) and with 100 mg/kg of a composition containing >80% of EPA and DHA ethylesters (Ex. 1, composition B). The rats of the 2 groups were then anesthetized with sodium pentobarbital i.p. (50 mg/kg), then subjected to ligation of the left anterior descending coronary artery, which allows blood flow to the left ventricle, so inducing an acute ischemic state of the myocardium. During the subsequent 15 minutes the duration of ventricular fibrillation was recorded by ECG, this either resolving itself spontaneously or concluding with sudden death.

Results

T	F (sec)	Mortality	S (%)
C	190 ± 24 (18/20)	16/20	20
100 mg/kg	55 ± 5 (04/20)	01/20	95

T-treatment; F-duration of fibrillation; S-survivals after 15 minutes; C-control (with physiological solution).

Test 4

The experimental model implemented for sudden death by respiratory arrest involves its inducement by chloroform inhalation.

4 groups of 10 male mice, initial weight 26-32 g, were treated orally for 5 days with physiological solution (control group) and with 10, 30 and 60 mg/kg of a composition containing 80% of EPA and DHA ethylesters (Ex. 1, composition C).

60 minutes after the end of the last treatment, the animals were exposed to chloroform until respiratory arrest had occurred. The animals were then checked for tachyarrhythmia of the myocardium induced by the hypoxic state, this either resolving itself spontaneously within the next 15 minutes or

concluding with death of the animal.

Results

Treatment	Protection from tachyarrhythmia	Survivals
Control	00/10	03/10
10 mg/kg	04/10	06/10
30 mg/kg	07/10	08/10
60 mg/kg	09/10	10/10

Test 5

2 groups of 20 male rats were treated as on Test 3, with physiological solution and with the same EPA and DHA composition (Example 1, composition B).

Ligature of the circumflex coronary artery was then effected, with consequent reduction in the contractile capacity of the myocardium and of the ejection fraction. The mortality of 18/20 animals of the control group fell to 4/20 of the treated group, during the course of the subsequent 60 minutes.

The clinical results of the tests demonstrate the pharmacological activity of the polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series in the primary prevention of major cardiovascular events in subjects who have not undergone previous infarct episodes.

1. Abstract

The use of polyunsaturated fatty acids of the ω -3 series such as eicosapentaenoic acid (EPA, C_{20:5} ω -3), docosahexaenoic acid (DHA, C_{22:6} ω -3), or their pharmaceutically acceptable derivatives is described for the primary prevention of major cardiovascular events in subjects who have not undergone previous infarct episodes.